

JUMLAH LIMFOSIT PADA MODEL INFLAMASI SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK GETAH BIDURI (*Calotropis gigantea*)

Zahara Meilawaty

Bagian Biomedik, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

ABSTRACT

Background: Biduri many found in the region be in season drought, is a wild shrub. The sap contains bakteriolitik enzymes and proteolytic kalotropin enzymes papain-like. Biduri sap can be used as a toothache cure, heal ulcers and accelerate healing. **Objective:** to see the effect of extracts of sap of biduri against the number of lymphocytes in rat made gingival inflammation. **Methods:** The study used 36 wistar rats. All rat were given injury on their gingival using punch biopsy, further more divided into 4 groups, (1) control (-), given no medication; (2) control (+), given ibuprofen; (3) treatment group, given the extract of sap of biduri 50 mg / kg bw; (4) treatment group, given the extract of sap of biduri 500 mg / kg bw. Furthermore, each of 3 rats in all groups performed sacrificed on the 2nd, 4th, 8th day's after injury to take the mandible, after that the histological observation were done. The data were analyzed by two way Anova test, was continued by LSD test. Results: There were significant differences among the group for the number of lymphocytes in all groups (P<0.05). Conclusion: The extracts of biduri sap can reduce the number of lymphocytes.

Keywords : biduri, inflammation, lymphocytes

Korespondensi (Correspondence): Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember Jl. Kalimantan 37 Jember, Telp/fax : (0331) 333536/(0331) 331991. e-mail: zhr_mel@yahoo.com

Penggunaan bahan alam, baik sebagai obat maupun tujuan lain cenderung meningkat, terlebih dengan adanya isu *back to nature* serta krisis berkepanjangan yang mengakibatkan turunnya daya beli masyarakat. Banyak orang beranggapan bahwa penggunaan tanaman obat atau obat tradisional relatif lebih aman dibandingkan obat sintesis. Walaupun demikian bukan berarti tanaman obat atau obat tradisional tidak memiliki efek samping yang merugikan, bila penggunaannya kurang tepat. Agar penggunaannya optimal, perlu diketahui informasi yang memadai tentang kelebihan dan kelemahan serta kemungkinan penyalahgunaan obat tradisional dan tanaman obat¹.

Indonesia kaya akan sumber bahan obat alam dan obat tradisional yang telah digunakan oleh sebagian besar masyarakat secara turun temurun. Salah satu tanaman obat adalah biduri (*Calotropis gigantea*). Tanaman biduri banyak ditemukan didaerah bermusim kemarau panjang, seperti padang rumput yang kering, lereng-lereng gunung yang rendah, dan pantai berpasir. Biduri merupakan tumbuhan semak liar dengan tinggi 0,5-3 m. Batang bulat, berkayu, ranting muda berambut tebal berwarna putih. Getah akan keluar dari tanaman ini jika salah satu bagiannya dilukai. Getahnya berwarna putih, encer, rasanya pahit dan kelat, lama-kelamaan terasa manis, baunya sangat menyengat².

Kandungan kimia daun biduri antara lain saponin, flavanoid, polifenol, tanin, dan kalsium oksalat. Getah biduri mengandung enzim bakteriolitik, kalaktin glikosida yang sangat toksik (pada penambahan konsentrasi untuk membasmi serangga dan belalang),

kalotropin DI, kalotropin DII, kalotropin FI, kalotropin FII, dan enzim proteolitik kalotropin yang menyerupai papain^{2,3}.

Getah biduri berkhasiat sebagai pencahar, dan dapat digunakan sebagai obat bisul, eksim, luka pada sifilis, serta bisa digunakan sebagai obat sakit gigi dengan cara meneteskan getahnya pada bagian yang sakit. Getah biduri juga bisa digunakan untuk menyembuhkan ulcer dan mempercepat penyembuhan^{2,3,4,5,6}. Ekstrak getah *C. procera* (tanaman yang satu genus dengan biduri) dengan dosis 50 dan 500 mg/kg BB diketahui mempunyai efek antiinflamasi, yaitu dapat menghambat histamin, bradikinin, dan prostaglandin yang terjadi pada inflamasi yang diinduksi oleh karagenan⁷.

Inflamasi merupakan salah satu respon pertama sistem imun terhadap infeksi. Inflamasi dapat disebabkan oleh masuknya benda asing ke dalam tubuh, invasi dari kuman, trauma fisik, bahan kimia, dan faktor alergi. Inflamasi mempunyai efek yang menguntungkan, seperti netralisasi dan pembuangan agen penyerang, menghancurkan jaringan nekrosis, dan membentuk keadaan yang dibutuhkan untuk perbaikan dan penyembuhan^{8,9,10,11}.

Inflamasi dicetuskan oleh pelepasan mediator kimiawi dari jaringan yang rusak dan migrasi sel. Fenomena inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskular, meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit ke jaringan inflamasi. Gejala proses inflamasi yang sudah dikenal ialah calor, rubor, tumor, dolor, dan functio laesa. Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang,

menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat perbaikan jaringan⁸.

Salah satu tanda dalam proses inflamasi adalah migrasi dari limfosit. Limfosit adalah suatu jenis sel darah putih yang terlibat dalam sistem kekebalan pada vertebrata. Ada dua kategori besar limfosit, limfosit berbutiran besar (*large granular lymphocytes*) dan limfosit kecil. Limfosit memiliki peran penting dan terpadu dalam sistem pertahanan tubuh. Limfosit dibuat di sumsum tulang dan hati (pada fetus) dengan bentuk awal yang sama tetapi kemudian berdiferensiasi. Melalui mekanisme yang belum diketahui, jumlah limfosit dalam darah sering meningkat yang berkaitan dengan infeksi kronis¹².

Penggunaan obat antiinflamasi nonsteroid (AINS) sangat efektif untuk mengurangi inflamasi dan rasa sakit. Semua obat AINS, salah satunya ibuprofen bekerja sebagai antiinflamasi dengan menghambat sintesis prostaglandin dengan cara menghambat enzim *COX* yang mengkatalis reaksi asam arakidonat menjadi senyawa endoperoksidase. Tetapi, penggunaan obat AINS dapat menimbulkan efek samping, diantaranya dapat menyebabkan terjadinya perdarahan gastrointestinal, memperlama waktu perdarahan, serta dapat merusak fungsi ginjal^{13,14,15,16}. Oleh karena itu, masih perlu dicari bahan alam atau bahan lain sebagai obat antiinflamasi dengan efek samping yang minimal.

Belum adanya penelitian ilmiah laboratoris dalam bidang kesehatan mengenai pemberian ekstrak metanolik getah biduri (*Calotropis gigantea*) terhadap jumlah limfosit sebagai indikator inflamasi yang disebabkan oleh perlakuan ini mendorong peneliti untuk mengetahui hal tersebut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini telah mendapatkan kelaikan etik (*ethical clearance*) dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan 36 ekor tikus putih *strain wistar*, umur 3 bulan dengan berat 200-300 gram.

1. Pembuatan Ekstrak Getah Biduri

Tanaman biduri diperoleh dari daerah sekitar Candi Prambanan Yogyakarta. Pembuatan ekstrak getah biduri dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol. Getah biduri didapat dengan cara memotong batangnya. Getah yang didapat direndam dalam metanol, disimpan terlindung dari cahaya langsung selama 3 hari, setelah itu getah disaring menggunakan kertas saring. Hasil penyaringan diuapkan di atas kompor menggunakan *water bath* sampai didapatkan ekstrak kental.

2. Pembuatan Perlakuan

Tikus dianestesi dengan menggunakan ketalar secara intra muskular, kemudian perlakuan dibuat dengan cara melakukan *punch biopsy* (Ø 2,5 mm) pada mukosa gingiva rahang bawah. *Punch biopsy* ditekan sambil diputar pada mukosa gingiva sampai menyentuh tulang.

3. Pelaksanaan Penelitian

Tikus terlebih dahulu diadaptasikan dengan lingkungan laboratorium kurang lebih selama 7 hari. Tikus dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu (1) kontrol negatif (-) sebanyak 9 ekor tikus putih, dipunch *biopsy* tetapi tidak diberi obat; (2) kontrol positif (+) sebanyak 9 ekor tikus putih, dipunch *biopsy* dan diberi ibuprofen dengan dosis 108 mg/kg BB; (3) kelompok perlakuan sebanyak 9 ekor tikus putih, dipunch *biopsy* lalu diberi ekstrak getah biduri 50 mg/kg BB; (4) kelompok perlakuan sebanyak 9 ekor tikus putih, dipunch *biopsy* lalu diberi ekstrak getah biduri 500 mg/kg BB. Pada hari ke-2, ke-4, dan ke-8 dilakukan dekapitasi, diambil rahang bawahnya untuk dibuat sediaan jaringan selanjutnya dilakukan pengecatan HE (*Hematoxylin Eosin*).

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, rata-rata jumlah limfosit tikus pada semua kelompok dapat dilihat pada tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Rata-rata dan standart deviasi jumlah neutrofil berdasarkan kelompok perlakuan dan waktu dekapitasi

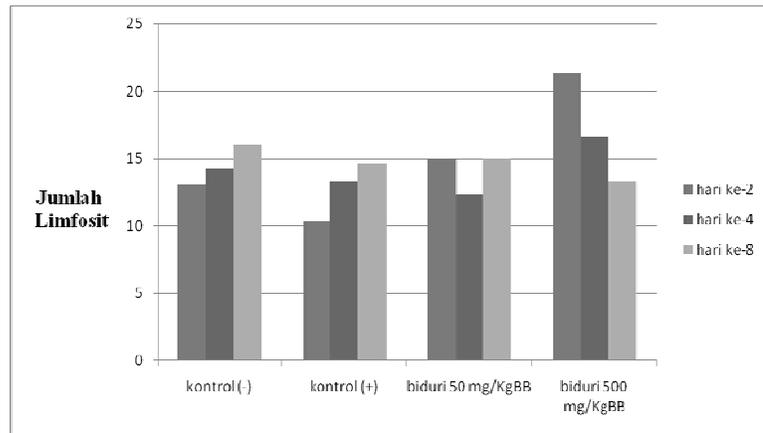
Waktu Dekapitasi	Kelompok Perlakuan ($\bar{X} \pm SD$)			
	Kontrol negatif (-)	Kontrol positif (+)	Biduri 50 mg/kg BB	Biduri 500 mg/kg BB
Hari ke-2	13±1	10,33±1,53	15±2	21,33±4,16
Hari ke-4	14,33±1,53	13,33±2,08	12,33±1,53	16,67±2,52
Hari ke-8	16±2	14,67±1,53	15±2,65	13,33±3,21

Keterangan: \bar{X} : rerata
SD : standart deviasi

Tabel 1 memperlihatkan hasil bahwa pada kelompok kontrol (-) dan kontrol (+) rata-rata jumlah limfosit mengalami peningkatan mulai hari ke-2 sampai hari ke-8. Rata-rata jumlah limfosit pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak metanolik getah biduri 50 mg/KgBB mengalami penurunan pada hari ke-4 tetapi terjadi peningkatan kembali pada hari ke-8. Sedangkan pada kelompok perlakuan yang diberi ekstrak metanolik getah biduri 500 mg/KgBB rata-rata jumlah limfositnya terus mengalami penurunan mulai dari awal pengamatan yaitu pada hari ke-2 sampai akhir pengamatan hari ke-8.

Perbandingan rata-rata jumlah limfosit mencit dari tiap kelompok pada masing-masing hari pengamatan juga dapat dilihat pada grafik (gambar 1). Dari data rata-rata jumlah limfosit selanjutnya dilakukan uji

normalitas menggunakan uji *Kolmogorof Smirnov* dan uji homogenitas menggunakan *Uji Levene*. Dari hasil uji tersebut didapatkan hasil bahwa data terdistribusi normal dan homogen, oleh karena itu selanjutnya dilakukan uji *Two way Anova*. Rangkuman hasil uji *Two way Anova* dapat dilihat pada tabel 2. Hasil uji *Two way Anova* memperlihatkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,005$). Hasil ini menyimpulkan bahwa terdapat perbedaan jumlah limfosit yang signifikan atau bermakna. Sehingga data tersebut perlu dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan Uji LSD untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan. Hasil Uji LSD dapat dilihat pada tabel 3. Pada uji ini, data dianggap memiliki perbedaan yang signifikan apabila memiliki nilai signifikansi kurang dari 0,05.



Gambar 1. Grafik Rata-rata jumlah limfosit pada jaringan gingiva tikus putih yang terinflamasi pada masing-masing kelompok

Tabel 2. Rangkuman hasil uji *Two way Anova* terhadap rata-rata jumlah pada semua kelompok

	df	F	Sig.
Kelompok*Waktu	6	4,728	,003*

Tabel 3. Rangkuman hasil uji LSD rata-rata jumlah limfosit pada semua kelompok

Kelompok - Hari	K(-) H2	K(+) H2	50 H2	500 H2	K(-) H4	K(+) H4	50 H4	500 H4	K(-) H8	K(+) H8	50 H8	500 H8
K (-)- H2	-	.169	.298	.000*	.485	.861	.726	.063	.124	.384	.298	.861
K(+)- H2	.169	-	.020*	.000*	.044*	.124	.298	.003*	.006*	.030*	.020*	.124
50 - H2	.298	.020*	-	.003*	.726	.384	.169	.384	.600	.0861	1.000	.384
500- H2	.000*	.000*	.003*	-	.001*	.000*	.000*	.020*	.009*	.002*	.003*	.000*
K(-) - H4	.485	.044*	.726	.001*	-	.600	.298	.227	.384	.861	.726	.600
K(+)- H4	.861	.124	.384	.000*	.600	-	.600	.089	.169	.485	.384	1.000
50 -H4	.726	.298	.169	.000*	.298	.600	-	.030*	.063	.227	.169	.600
500-H4	.063	.003*	.384	.020*	.227	.089	.030*	-	.726	.298	.384	.089
K(-) - H8	.124	.006*	.600	.009*	.384	.169	.063	.726	-	.485	.600	.169
K(+)-H8	.384	.030*	.861*	.002*	.861	.485	.227	.298	.485	-	.861	.485
50-H8	.298	.020*	1.000	.003*	.726	.384	.169	.384	.600	.861	-	.384
500-H8	.861	.124	.384	.000*	.600	1.000	.600	.089	.169	.485	.384	-

Keterangan: * : menunjukkan perbedaan yang signifikan
 K(-) : di *punch biopsy* tetapi tidak diberi obat
 K(+): di *punch biopsy*, diberi ibuprofen
 50 : di *punch biopsy*, diberi ekstrak getah biduri 50 mg/KgBB
 500 : di *punch biopsy*, diberi ekstrak getah biduri 500 mg/KgBB
 H2 : waktu pengamatan hari ke dua
 H4 : waktu pengamatan hari ke empat
 H8 : waktu pengamatan hari ke delapan

DISKUSI

Hasil penelitian yang terlihat pada Tabel 1 menunjukkan bahwa rata-rata jumlah limfosit pada kelompok kontrol (-) mengalami peningkatan paling tinggi mulai hari ke-2 sampai hari ke-8. Hal ini disebabkan pada kelompok kontrol (-) tikus yang di *punch biopsy* tidak diberi obat sehingga tidak ada rangsangan untuk mengurangi inflamasi. Kelompok kontrol (+) pun mengalami peningkatan rata-rata jumlah limfosit mulai hari ke-2 sampai hari ke-8 tetapi tidak sebanyak kelompok kontrol (-) karena pada kelompok ini diberi ibuprofen. Ibuprofen adalah salah satu obat antiinflamasi non steroid sehingga dapat menekan inflamasi yang terjadi.

Uji *Two way Anova* (tabel 2) menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah limfosit yang signifikan atau bermakna ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat efek dari pemberian ekstrak metanolik getah biduri yang dapat menurunkan jumlah limfosit.

Kelompok perlakuan yang diberi ekstrak metanolik getah biduri 50 mg/KgBB rata-rata jumlah limfositnya mengalami penurunan pada hari ke-4 tetapi meningkat kembali pada hari ke-8. Hal ini dapat disebabkan karena efek dari ekstrak metanolik getah biduri 50 mg/KgBB telah habis, sehingga tikus mengalami inflamasi kembali atau infeksi baru, atau karena faktor pertahanan tubuh tikus, sehingga berpengaruh pada *duration of action*nya. Sedangkan kelompok yang diberi ekstrak metanolik getah biduri 500 mg/KgBB rata-rata jumlah limfositnya mengalami penurunan terus mulai dari awal pengamatan yaitu pada

hari ke-2 sampai akhir pengamatan hari ke-8. Dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak metanolik getah biduri 500 mg/KgBB lebih efektif menurunkan jumlah limfosit dibandingkan konsentrasi 50 mg/KgBB. Hal ini kemungkinan disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi ekstrak metanolik getah biduri maka semakin tinggi pula kandungan zat aktifnya sehingga kerjanya bisa lebih efektif.

Ekstrak metanolik getah biduri mampu menekan jumlah limfosit tikus yang diberi perlakuan dengan *punch biopsy* diduga karena adanya zat aktif yang terkandung di dalamnya, namun mekanismenya belum sepenuhnya diketahui secara pasti. Getah biduri mengandung enzim proteolitik kalotropin yang menyerupai papain^{2,3}. Enzim proteolitik merupakan modulator dan regulator yang penting pada respon inflamasi. Enzim ini berperan penting pada peningkatan makrofag dan sel *Natural Killer (NK)*, serta dapat menstimuli fagositosis neutrofil. Enzim proteolitik berperan pada proses inflamasi melalui banyak mekanisme, diantaranya dapat mengaktifkan sistem komplemen yang berfungsi sebagai mediator inflamasi yang penting, mengurangi pembengkakan membran mukosa, menurunkan permeabilitas kapiler, dan dapat mengurangi pembentukan fibrin pada daerah luka^{17,18}.

Daya proteolitik dalam asam amino pada enzim protease dapat digunakan sebagai obat anti bengkak, selain itu protease merupakan golongan enzim yang relatif kuat. Enzim proteolitik getah biduri termasuk dalam jenis sistein protease,

sebagaimana enzim protease dari kebanyakan tanaman (papain dan bromelin)^{19,20}.

Enzim proteolitik bekerja dengan memotong rantai protein, apabila tubuh atau jaringan mengalami luka maka tubuh akan merespon dengan terjadinya inflamasi. Inflamasi yang berlebihan akan menyebabkan proses penyembuhan menjadi terhambat. Enzim proteolitik dapat mengurangi inflamasi yang terjadi dengan menetralkan bradikinin dan eukasinoid *pro-inflammatory* ke level dimana proses repair dan regenerasi jaringan yang luka dapat dimulai, serta dapat memicu terjadinya koagulasi darah^{18,19}.

Penelitian yang dilakukan oleh Arya⁷ menyatakan bahwa getah *C. procera* (tanaman yang satu genus dengan biduri) diketahui dapat menghambat infiltrasi komponen seluler inflamasi dan menghambat terbentuknya prostaglandin. Peningkatan prostaglandin dapat menyebabkan terjadinya vasodilatasi, eritema, dan peningkatan aliran darah lokal sehingga migrasi leukosit ke area inflamasi semakin tinggi^{12,21}. Jadi, dengan terhambatnya jalur prostaglandin maka akan mengurangi terjadinya vasodilatasi pembuluh darah dan aliran darah lokal sehingga migrasi leukosit ke area inflamasi juga akan menurun, dalam hal ini adalah limfosit.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian ekstrak metanolik getah biduri dapat menurunkan jumlah limfosit pada gingiva tikus yang diberi perlakuan dengan *punch biopsy* sehingga kemungkinan dapat digunakan sebagai antiinflamasi, dan yang lebih efektif adalah ekstrak getah biduri 500 mg/KgBB. Namun, masih diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa aktif tanaman biduri yang dapat memberikan efek antiinflamasi serta perlu dilakukannya uji toksisitas sehingga bisa diaplikasikan pada manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Katno, Pramono, S. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. 2005. <http://iajogja.com/files/keamanan-dan-resikoobat-tradisional>. diakses 20 Mei 2011
- Dalimartha, S. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Trubus Agriwidya, 2005:11-16
- Muscle, Rub, J. *Herbal Monograph*. 2002. <http://www.himalayahealthcare.com>. diakses 20 April 2011
- Gruenwald, J., Brendler, T., Jaemicke, C., *PDR for Herbal Medicines*, 2nd ed, Medical Economic Company, New Jersey, 2000: 338-339
- Hariana, A. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*, Seri 3. Jakarta: Penebar Swadaya, 2006: 160-161
- Schmidt, R.J. *Asclepiadaceae*. 2006. <http://www.bodd.cf.ac.uk>. diakses 24 Maret 2011
- Arya, S., Kumar, V.L. *Antiinflammatory Efficacy of Extracts of Latex of Calotropis procera Against Different Mediators of Inflammation*. 2005. <http://www.hindawi.com>. diakses 3 Mei 2011
- Price, S. A dan Wilson, L. M.. *Patofisiologi Konsep Klinik Proses-Proses Penyakit, Edisi 2 bagian 1*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. 2006: 35-46
- Robbins, S.L., Kumar, V. *Buku Ajar Patologi*. Alih Bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomik Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, Edisi ke-4. Jakarta: EGC. 1995: 28-64
- Underwood, J.C.E. *General and Systematic Pathology*, 3th ed. Toronto: Churchill Livingstone. 2000: 202-221
- Robbins, S.L., Cotran, R.S., Kumar, V. *Basic Pathology*, 7th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 2003:33-78
- Ganiswara, S.G (Ed). *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta: Gaya Baru. 2005: 207-219
- Smith, C.J., Zhang, Y., Koboldt, C.M., Muhammad, J., Zweifel, B.S., Shaffer, A., Talley, J.J., Masferrer, J.L., Seibert, K., Isakson, P.C. *Pharmacological Analysis of Cyclooxygenase-1 in Inflammation*. 1998. <http://www.pubmedcentral.nih.gov>. diakses 8 Juni 2011
- Tripathi, K.D. *Essentials of Medical Pharmacology*, 5th ed. New Delhi: Jaypee Brothers. 2003:156-184
- Lee, Y., Rodriguez, C., Dionne R.A. *The Role of COX-2 in Acute Pain and the Use of Selective COX-2 Inhibitors for Acute Pain Relief*. 2005:1737-1755. <http://www.bentham.org>. diakses 8 Juni 2011
- Vardar, S. *The Administration of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Selective Cyclooxygenase-2 Inhibitors in Dentistry*. 2005. <http://www.bentham.org>. diakses 8 Juni 2011
- Lenard, L., Dean, W., English, J. *Controlling Inflammation with Proteolytic Enzymes*. 2000. <http://www.allergyresearchgroup.com>. diakses 30 Juni 2011
- Baron, J. *Enzymes: Part 3 of 3*. 2003. <http://www.rd.bcentral.com>. diakses 30 Juni 2011
- Rajesh, R., Gowda, C.D.R., Nataraju, A., Dhananjaya, B.L., Kemparaju, K., Vishwanath, B.S. *Procoagulant activity of Calotropis gigantea latex*

- associated with fibrin(ogen)olytic activity.* 2005.
<http://www.sciencedirect.com>.
diakses 14 Mei 2011
20. Diwan, J.J. *Protein Degradation*. 2006.
<http://www.rpi.edu/dept/>
- bcbp/molbiochem, diakses 24 April 2011
21. Katzung, B.G. *Basic & Clinical Pharmacology*, 9th ed. Toronto: Mc Graw Hill. 2004: 576-587